

Afrykański pomór koni

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

Pierwszy opis choroby o objawach przypominających afrykański pomór koni pochodzi z 1327 r., z epidemii dotyczącej koni i mułów w Jemenie. Choroba pojawiła się nagle i cechowała się wyciekaniem konsystencji śluzowej z nozdrzy, osłabieniem mięśni szyi oraz nagłymi padnięciami chorych zwierząt. W 1301 r. opisano epizootię z objawami afrykańskiego pomoru koni i dużą śmiertelnością w Rzymie, zaś Lancisi opisał epizootię najprawdopodobniej także afrykańskiego pomoru koni w 1712 r. we Włoszech. W 1900 r. Mc Fayden wywołał chorobę u zdrowych koni za pośrednictwem przesączu krwi chorych koni, a w 1901 r. Nocard i Theiler potwierdzili, że przyczyną choroby jest zarazek przesączalny występujący we krwi chorych koni oraz wysunęli przypuszczenie o występowaniu kilku serotypów wirusa i braku odporności krzyżowej pomiędzy nimi. Później okazało się, że występuje odporność krzyżowa pomiędzy niektórymi serotypami wirusa afrykańskiego pomoru koni. W 1910 r. rolę kleszczy jako wektorów choroby udowodnił doświadczalnie Reinicke, zaś w 1944 r. Dutoit wykazał rolę kuczmanów (*Culicoides* spp.; 1). Afrykański pomór koni (African horse sickness) jest zakaźną chorobą zwierząt koniowatych i psów przenoszoną przez owady krwiopijne z objawami posocznicy, obrzęków tkanki podskórnej, zaburzeń układu oddechowego i układu krążenia (2).

Epidemiologia

Choroba występuje stacjonarnie w Południowej Afryce, a w związku z przesunięciem granicy występowania wektorów choroby związanymi ze zmianami klimatycznymi i globalnym ociepleniem wykazuje tendencje do rozprzestrzeniania się na całą Afrykę, sąsiednie i odległe kraje (3). Przed 1953 r. w odstępach 20–30-letnich występowały epizootie choroby w Afryce Południowej. W latach 1954–1955 padło ponad 40% koni w Kraju Przylądkowym (Prowincja Przylądka Dobrej Nadziei). Obecnie choroba występuje także w Północnej Afryce, na Środkowym Wschodzie, Półwyspie Arabskim, Południowo-Zachodniej Azji i w basenie Morza Śródziemnego. W 1966 r. pojawiła się po raz pierwszy w Hiszpanii. W epizootii na Środkowym Wschodzie i w Południowo-Zachodniej Azji padło ponad 300 tys. koni. Epizootie przerwały szczyt populacji zwierząt wrażliwych na chorobę (4). Na terenach endemicznych afrykański pomór koni pojawia się cyklicznie, co 8–10 lat, cechuje się sezonowością związaną z okresami aktywności biologicznej wektorów. Ze względu na potencjalne ryzyko szybkiego rozprzestrzeniania się choroby oraz skutki ekonomiczne afrykański pomór koni jest uznany za chorobę transgraniczną i notyfikowany do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt

African horse sickness

Gliński Z., Żmuda A., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

African horse sickness is a highly infectious and devastating disease that causes great suffering and many fatalities in equids. It commonly affects horses, mules, donkeys and dogs. The disease is caused by nine different serotypes of the African horse sickness virus, ASHV, genus Orbivirus (Reoviridae), and it is spread mainly by hematophagous arthropods of the Culicoides. Some cross-reactions are observed between 1 and 2,3 and 7,5 and 8, and 6 and 9 serotypes. Clinical forms of AHS include peracute pulmonary, subacute cardiac, and mixed as well as subclinical (horse sickness fever). The most severe, with mortality rates exceeding 95%, is the pulmonary form, accompanied by fever, mild depression, sweating, spasmodic coughing, anorexia and respiratory distress. The subacute cardiac form with a mortality of about 50%, is characterized by fever, swelling of the head, neck and supraorbital fossae and sometimes, petechial hemorrhages in the eyes. The mildest form of the disease is generally not fatal and is accompanied by a low grade fever, anorexia, depression and congestion of the mucous membranes. The most common cases with a 70% mortality rate, are mixture of the pulmonary and cardiac forms. Differential diagnosis include equine encephalosis virus (also Orbivirus), equine infectious anemia, equine viral arteritis, anaplasmosis, babesiosis, or theileriosis. Clinical AHS cases have also been described in dogs, with acute respiratory distress syndrome or sudden death. Diagnosis of the disease is based on typical clinical signs and lesions, a history consistent with vector transmission and confirmation by laboratory detection of virus and/or anti-virus antibodies. Currently, prevention and control of African horse sickness is based on administration of live attenuated vaccines and control of the arthropod vectors.

Keywords: African horse sickness clinical cases, diagnosis, prophylaxis.

(OIE; 5). W Polsce znajduje się w wykazie chorób zakaźnych zwierząt podlegających obowiązkowi zwalczania (6).

Na chorobę najbardziej podatne są konie. Osły i muły są znacznie mniej podatne od koni, a u zebr występują zakażenia bezobjawowe, czasem występuje niewielka gorączka, ale wirus utrzymuje się ok. 40 dni. Psy są wrażliwe na zakażenie, przy czym zakażają się najczęściej drogą pokarmową za pośrednictwem mięsa zakażonych koniowatych (7). Są też przypadki zakażenia psów za pośrednictwem zakażonych kuczmanów (8). Seropozytywne bywają hieny (*Crocuta crocuta*), szakale, dzikie psy afrykańskie (*Lycan pictus*), gepardy (*Acinonyx jubatus*), lwy i pantery (*Genetta maculata*; 9).

Głównym źródłem zakażenia wirusem afrykańskiego pomoru koni są chore zwierzęta, ozdrowieńcy i bezobjawowi nosiciele wirusa. U koni nosicielstwo po przebyciu choroby może trwać do 90 dni, a u osłów 28 dni. Z reguły nosicielstwo ma miejsce po lekkim lub poronnym przebiegu choroby (10). Biologicznymi

wektorami wirusa są kuczmany *Culicoides* spp., (Diptera: Ceratopogonidae) – *C. imicola*, *C. bolitinos*, w Północnej Ameryce ponadto *C. variipensis*, w Australii – *C. brevitarsis*. Mniejszą rolę jako przenosiciele wirusa odgrywają komary z rodzajów *Culex* (11) i *Aedes* oraz kleszcze *Hyalomma* i *Rhipicephalus*, prawdopodobnie także krwio pijne muchy *Stomoxys* i *Tabanus* (12). Minimalna dawka zakaźna dla zakażenia doświadczonego *C. imicola* wynosi 10^4 – $10^{4,5}$ TCID₅₀/0,02 ml krwi, a więc nasilenie wirerii w organizmie zakażonych zwierząt musi być wysokie, ażeby kuczman mógł stać się wektorem wirusa. Owady krwio pijne pozostają wektorami przez ok. 12–18 dni (13). Wietrzna pogoda, ciepło i wilgoć sprzyjają rozprzestrzenieniu się wektorów w przypadku *Culicoides* spp. nad wodą na odległość do 700 km, a nad lądem na odległość do 150 km. Dlatego choroba może się pojawiać w krajach, które nie importują zwierząt z terenów endemicznych.

Etiologia

Izometryczny bezotczkowy wirion o średnicy 80 nm posiada kapsyd złożony z 32 kapsomerów, genom złożony z 10 segmentów linearnego dwupasmowego RNA otacza trzy warstwowy białkowy kapsyd. Genom koduje 7 białek strukturalnych (4 główne – VP2, VP3, VP5, VP7, 3 mniejsze – VP1, VP4, VP6) i 5 białek niestrukturalnych (NS1, NS2, NS3, NS3A, NS4; 14). VP3 (103 kDa) jest dimerem składającym się z dwóch izoform, VP1 (polimeraza zależna od RNA) ma masę 150 kDa, VP4 – 78 kDa, VP6 (helikaza i ATP-aza) ma masę 36 kDa (14).

Białka niestrukturalne uczestniczą w replikacji wirusa, jego budowie i transporcie z zakażonej komórki (15). Niestrukturalne białko NS4 (17–20 kDa) jest modulatorem wrodzonej odporności gospodarza przez wpływ na produkcję interferonu w zakażonej komórce (16).

Zewnętrzna warstwa kapsydu zawiera VP2 i VP5, pośrednia jest zbudowana z dwóch głównych białek VP3 i VP7, wewnętrzna – z trzech mniejszych białek VP1, VP4 i VP6. Białko VP2 jest głównym serotypowo-swoistym antygenem wirusa afrykańskiego pomoru koni, VP3 i VP7 (38 kDa) zawierają grupowo-swoiste antygenowe determinanty (15). Istnieje dziewięć serotypów wirusa, przy czym występują reakcje krzyżowe pomiędzy serotypami 1 i 2 oraz 3, pomiędzy serotypami 7 i 5 a serotypem 8 oraz pomiędzy serotypem 6 i 9 (17, 18). Wszystkie serotypy występują we Wschodniej i Południowej Afryce, serotyp 2, 4 i 9, wywoływał chorobę w Afryce Północnej i w Afryce Zachodniej oraz w basenie Morza Śródziemnego (Hiszpania – serotyp 4 i 9, Portugalia – serotyp 4; 19). Wirus aglutynuje eryocyty konia. Wszystkie serotypy zaadaptowano do linii komórkowych BHK21, MS (stała linia małpia), VERO i linii komórkowych owadów. Po 3–7 dniach powoduje zmiany cytopatyczne w hodowlach komórkowych. Rezerwuarem wirusa może być *C. imicola*. Obserwacje prowadzone w Hiszpanii świadczą o możliwości przeżycia *C. imicola* zimą, szczególnie na południu kraju. Rolę rezerwuaru wirusa może też spełniać osioł europejski (*Equus asinus*) lub muł, u których wirerii trwa od 10 do 27 dni (4).

Wirus ulega inaktywacji w 72°C przez 120 min, jest stabilny w 4°C w surowicy krwi i glicerynie do sześciu miesięcy, w 4°C w płynie fizjologicznym z dodatkiem 10% surowicy, ulega inaktywacji w pH poniżej 6,0 i powyżej 12. Formalina 0,1% niszczy wirus po 48 godz., 0,4% β-propiolakton, 2% kwas octowy, 1% Virkon S, 3% podchloryn sodu. Wirus nie traci zakaźności do dwóch lat w gnijącej krwi (19).

Patogeneza

Po ukąszeniu przez zakażonego owada wirus replikuje się w regionalnych węzłach chłonnych, skąd za pośrednictwem krwi (wirerii) związany z erytrocytami i monocytami osiąga komórki śródbłonka naczyń i komórki jednojądrzaste krwi. Tam powtórnie się replikuje i zakaża narządy docelowe: płuca, serce, śledzionę i szpik kostny, co prowadzi do limfopenii (20). Następnym replikacji wirusa w narządach docelowych jest wtórna wirerii, której następstwem jest uszkodzenie śródbłonka włosniczek, aktywacja makrofagów i wydzielania cytokin prozapalnych (IL-1, TNF-α; 21). Komórki śródbłonka naczyń włosowatych płuc, serca, śledziony i wątroby ulegają zwyrodnieniu, złuszczeniu się, występują mikrozawady, pod śródbłonkiem odkładają się złoże włóknika, na skutek zwiększonej przepuszczalności ścian naczyń powstają wybroczyny i obrzęki (22). W czasie wirerii wirus jest też obecny w nasieniu i moczu. U koni czas trwania wirerii nie przekracza 21 dni, zwykle trwa 4–8 dni, u zebr nie przekracza 40, a u osłów 28 dni. Postać kliniczna choroby zależy od tropizmu wirusa do śródbłonka naczyń płuc lub mięśnia sercowego.

Zachorowalność i śmiertelność zależą od gatunku, odporności zwierząt oraz nasilenia inwazji owadów krwio pijnych. Śmiertelność u koni wynosi 70–95%, mułów ok. 50%, a osłów ok. 10%. Na terenach wolnych od afrykańskiego pomoru koni choroba przebiega w ostrej formie, podczas gdy na terenach endemicznych chorują głównie zwierzęta młode i nowo wprowadzone. W surowicy koni, które przeżyły naturalne zakażenie, po 8–12 dniach pojawiają się przeciwciała wykrywalne w odczynie wiązania dopełniacza, teście ELISA, immunoblot i seroneutralizacji. Ozdrowieńcy są w pełni odporni na ponowne zakażenie homologicznym serotypem wirusa, natomiast po zakażeniu serotypem heterologicznym występuje gorączka lub postać sercowa (podostra) choroby.

Objawy kliniczne

Okres wylegania choroby wynosi 3–15 dni, zaś postacie kliniczne i zejście choroby zależą od zjadliwości szczepu i wielkości dawki zakaźnej oraz od kondycji i odporności zwierzęcia. Wyróżnia się cztery postacie kliniczne afrykańskiego pomoru koni: ostrą – płucną, podostrą – obrzękową lub sercową, subkliniczną – poronną (horse sickness fever) oraz postać mieszaną. Najczęściej występuje postać podostra choroby. Rzadko postać nerwowa, mogą zdarzać się nagłe padnięcia chorych zwierząt (3).

Postać poronna występuje u zebr i osłów afrykańskich, koni zakażonych słabo zjadliwymi szczepami

i sporadycznie u innych szczepionych zwierząt. Cechuje się gorączką (40–40,5°C), zmiennym apetytem, obrzękiem dołów nadoczodołowych. Objawy samostnie ustępują po 1–2 dniach. Bardzo rzadko zwierzęta padają.

Postać podostrą (sercową) spotyka się na terenach endemicznych u koni, osłów i mułów, które przebyły zakażenie innym serotypem wirusa. Tę postać choroby cechuje gorączka 39–41°C trwająca kilka tygodni, powstające po 2–3 dniach obrzęki w okolicy oczu, powiek, części twarzowej głowy, szyi, przedpiersia, dołów nadoczodołowych i żuchwy. Spojówki, błony śluzowe jamy nosowej i ustnej są obrzękłe i zaczerwienione, mogą występować drobne wybroczyny w spojówkach i wylewy krwawe na dolnej powierzchni języka. Zwierzęta są niespokojne, często pokładają się, występują trudności w połykaniu oraz objawy morzyska. Śmiertelność wynosi 50% lub więcej, śmierć następuje zwykle w ciągu tygodnia, poprzedza ją duszność i pienisty wyciek z nozdrzy.

Postać ostra (płucna) występuje najczęściej na terenach wolnych od choroby. Rozwija się szybko, nagle mogą wystąpić upadki. Ta postać choroby zwykle kończy się u 90–95% zwierząt śmiercią w ciągu tygodnia. Okres wylegania choroby wynosi 3–15 dni. Zwykle obserwuje się osowienie, utratę apetytu, gorączkę (39–41°C), w drugim dniu choroby duszność, napadowy kaszel, obfity pienisty wyciek barwy żółtawej z nozdrzy. Zwierzęta stoją na rozstawionych kończynach z wyciągniętą głową. Błony śluzowe są obrzękłe i przekrwione, obrzęki występują w okolicy oczu, na wargach i przedpiersiu.

Postać mieszaną (płucno-sercową) cechują słabiej nasilone objawy ze strony układu oddechowego i obrzęki aniżeli w postaci płucnej choroby. Śmiertelność wynosi 70–80%. Zwierzęta padają po 3–6 dniach po wystąpieniu gorączki.

Psy chorują na postać płucną choroby po spożyciu mięsa padłych koni. Możliwe jest też zakażenie psów za pośrednictwem owadów krwio pijnych (23). Jednak psy odgrywają tylko niewielką rolę w epizootologii afrykańskiego pomoru koni (24).

Zmiany anatomopatologiczne

U koni charakterystyczną zmianą w postaci płucnej choroby jest międzyzrakowy obrzęk płuc, wysiękowe zapalenie opłucnej z wybroczynami i wylewami krwawymi oraz obecność płynu w jamie klatki piersiowej. Tchawicę, oskrzela i oskrzeliki wypełnia surowiczy pienisty płyn. W płucach barwy czerwonej są wyraźnie zaznaczone przegrody międzyzrakowe. Czasem przy normalnym wyglądzie płuc występuje duża ilość płynu w jamie brzusznej. Węzły chłonne, zwłaszcza w klatce piersiowej i jamie brzusznej, są powiększone. Czasem stwierdza się wybroczyny pod torebką śledziony, przekrwienie kory nerek, nacieki wokół aorty i tchawicy, drobne wybroczyny na błonach śluzowych i surowiczych. Może występować przekrwienie dna żołądka, przekrwienie i wybroczyny w jelitach cienkich i grubych.

W postaci sercowej stwierdza się puchlinę osierdzia, wybroczyny i wylewy krwawe pod osierdziem

i wsierdziem, surowiczo-galaretowate nacieki barwy żółtej w tkance podskórnej i śródmięśniowej głowy, szyi, łopatek, czasem przedpiersia, dolnej części brzucha i zadu. Ponadto występuje obrzęk podśluzówki jelita ślepego, okrężnicy i odbytnicy. Płuca z reguły są niezmienione lub tylko nieznacznie obrzękłe.

U psów najważniejszymi zmianami są wodobrzusze, przekrwienie i obrzęk płuc. Czasem w płucach stwierdza się ogniska zwłóknienia lub rozedmy. U doświadczalnie zakażonych psów śluzówka jelit cienkich oraz wątroba i narządy wewnętrzne były przekrwione, wybroczyny i wylewy krwawe występowały pod wsierdziem. Badanie histopatologiczne wykazuje silny obrzęk i przekrwienie płuc, zwyrodnienie szkliste mięśnia sercowego i rozstrzeń sinusoidów wątroby (25).

Rozpoznanie

W rozpoznaniu afrykańskiego pomoru koni uwzględnia się sytuację epizootyczną, sezonowość występowania choroby, objawy i zmiany chorobowe, wysoką zachorowalność i śmiertelność, wyniki badania wirusologicznego i badań serologicznych. Badania laboratoryjne służą ostatecznemu rozpoznaniu choroby i obejmują izolację oraz identyfikację wirusa oraz określenie serotypu. Serotypowanie jest szczególnie ważne w przypadku zachorowań poza strefą endemiczną, ponieważ umożliwia dobór szczepionki opartej o szczep homologiczny wirusa do będącego przyczyną choroby (19). Materiałem do izolacji wirusa jest pobrana przyżyciowo, najlepiej we wczesnym okresie gorączkowym, na heparynę krew, natomiast pośmiertnie – wycinki wątroby, śledziony, płuc i węzły chłonne, które przesysła się w 10% zbuforowanym roztworze glicerolu w 4°C. Wirus afrykańskiego pomoru koni izoluje się na liniach komórkowych BHK-21, MS, VERO oraz KC (hodowla komórkowa *Culicoides*), zarodkach jaja kurzego, nowo narodzonych myszach zakażonych domózwowo. Serotypowanie przeprowadza się testem seroneutralizacji (SN) i redukcji łyśinek. Do wykrywania antygeny wirusa we krwi i tkankach (śledziona) jest zalecany test ELISA i jego modyfikacje (bELISA, iELISA; 26), RT-PCR, który umożliwia wykrycie nawet niewielkich ilości kopii wirusa (27, 28). Testami serologicznymi wykrywa się w surowicy obecność przeciwciał po 8–14 dniach po zakażeniu. W tym celu zalecane są testy ELISA, odczyn wiązania dopełniacza, test SN, immunoblotting, rzadziej odczyn immunodiffuzji i zahamowania hemaglutynacji. Wskazane jest badanie par surowic, zwłaszcza na terenach endemicznych.

Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt (OIE; 19) zaleca w diagnostyce następujące testy: na terenach wolnych od choroby – RT-PCR (z ograniczeniami) do identyfikacji wirusa, ELISA – do wykrywania obecności przeciwciał. W przypadku zwierząt wolnych od zakażenia przed transportem na nowe tereny do wykrywania obecności wirusa – RT-PCR, ELISA (z ograniczeniami) – do wykrywania przeciwciał. W celu potwierdzenia zakażeń klinicznych – RT-PCR i izolację wirusa, do wykrywania przeciwciał – ELISA (z ograniczeniami), w nadzorze (surveillance) – RT-PCR (z ograniczeniami) i ELISA do wykrywania

przeciwiał. Natomiast do oceny statusu immunologicznego po szczepieniu OIE zaleca się test SN oraz ELISA (z ograniczeniami). AAEP (American Association of Equine Practitioners) celem potwierdzenia afrykańskiego pomoru koni do wykrycia wirusa zaleca test duplex RT-PCR, a do wykrywania obecności przeciwiał test VP-7 blokowania ELISA (29).

Postępowanie

Szczegółowe postępowanie w przypadku wybuchu choroby lub jej podejrzenia określają przepisy odnośnie zwalczania afrykańskiego pomoru koni. W krajach należących do Unii Europejskiej obowiązuje dyrektywa Rady 92/35/EEC z 29 kwietnia 1992 r. i aneks IV do dyrektywy Rady 2009/156/EC z 30 listopada 2009 r. Podstawą zapobiegania chorobie są szczepienia ochronne z użyciem różnych szczepionek. Żywe atenuowane szczepionki stosowane powszechnie przez ponad 60 lat z dobrymi efektami niosą trzy zagrożenia. Po pierwsze, istnieje możliwość rewersji wirusa szczepionkowego do postaci zjadliwej. Po drugie, może dojść do reorganizacji genetycznej (genetic reassortment) pomiędzy wirusem powodującym chorobę a wirusem szczepionkowym. Po trzecie, nie ma możliwości odróżnienia zwierząt szczepionych od zwierząt zakażonych na drodze naturalnej (2). Te niedogodności wykluczają szczepionki wektorowe, szczepionki wykorzystujące „genetykę rewersyjną” (based on reverse genetics), która polega na spowodowaniu specyficznych zmian w sekwencjach kwasu nukleinowego w genie przy pomocy inżynierii molekularnej, oraz szczepionki wykorzystujące cząsteczki wirusopodobne (virus-like particles). W powszechnym użyciu są dwie wieloważne żywe atenuowane szczepionki, jedna zawiera serotypy 1, 3 i 4, druga natomiast serotypy 2, 6, 7 i 8 wirusa afrykańskiego pomoru koni (30). Szczepionka formolizowana była używana w latach 1987–1991. Szczepionka rekombinowana VP2 DNA nie zdała egzaminu ze względu na niską immunogenność (31). Szczepionkę rekombinowaną z ekspresją na bakulowirusie stosowano wyłącznie lub w kombinacji ze szczepionką z podjednostek VP5 i VP7. Przy dobrej immunogenności niemożliwe jest odróżnienie zwierząt zakażonych naturalnie od szczepionych (32). Opracowano szczepionkę z adjuwantem z ekspresją VP2 i VP5 wirusa na wirusie ospy kanarków oraz na zmodyfikowanym wirusie ospy Ankara (MVA; 33). Szczepionki, których produkcja opiera się na genetyce rewersyjnej, są żywymi szczepionkami powstałymi w wyniku klonowania kopii cDNA genów i produkowanymi na liniach komórkowych ssaków w oparciu o strategię podwójnej transfekcji (34). Mogą zawierać antygeny ochronne dla wszystkich dziesięciu serotypów wirusa afrykańskiego pomoru koni. Przyszłością są szczepionki zawierające cząsteczki wirusopodobne (VLPs; 35). Są wysoce immunogenne, bezpieczne, ponieważ nie ma możliwości rewersji i reorganizacji genetycznej, ponadto można odróżnić zwierzęta szczepione od zakażonych na drodze naturalnej.

Odporność po poliwalentnych szczepionkach z atenuowanym wirusem po dwukrotnym podaniu

utrzymuje się do czterech lat, zaś monowalentne szczepionki chronią przed zakażeniem homologicznym serotypem wirusa afrykańskiego pomoru koni przez całe życie. Badania opublikowane w 2020 r., dotyczące szczepionki inaktywowanej dla serotypów 1, 4, 7–9 oraz szczepionki dla serotypów 2, 3, 5, 6, wykazały, że po dwóch dawkach szczepionki uzyskano solidną odporność, trwającą 12 miesięcy (36).

Piśmiennictwo

- Blancou J.: History of the surveillance and control of transmissible animal diseases. *OIE*, Paris, 2003. 244–246.
- Dennis S.J., Meyers A.E., Hitzeroth I., Rybicki E.P.: African horse sickness: A review of current understanding and vaccine development. *Viruses* 2019. Doi: 10.3390/v11090844.
- Mellor P.S., Hamblin C.: African horse sickness. *Vet. Res.* 2004, 35, 445–466.
- Mellor P.: African horse sickness: Transmission and epidemiology. *Vet. Res.* 1993, 24, 199–212.
- OIE: OIE listed diseases, 2020, <http://www.animalhealthsurveillance.agriculture.gov.ie/oielisteddiseases>
- Ustawa z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. *Dz.U.* 2020, 1421.
- McIntosh B.M.: Horse sickness antibodies in the sera of dogs in enzootic areas. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 1955, 26, 269–270.
- Van Sittert S.J., Drew T., Kotze J.L., Strydom T., Weyer C.T., Guthrie A.J.: Occurrence of African horse sickness in a domestic dog without apparent ingestion of horse meat. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2013. Doi: 10.4102/jsava.v84i1.948.
- Alexander K.A., Kat P.W., House J., House C., O'Brien S.J., Laursen M.K., McNutt J.W., Osburn B.I.: African horse sickness in African carnivores. *Vet. Microbiol.* 1995, 47, 133–140.
- Carpenter S., Mellor P.S., Fall A.G., Garros C., Venter G.J.: African horse sickness virus: History, transmission, and current status. *Annu. Rev. Entomol.* 2017, 62, 343–358.
- Ozawa Y., Nakada G.: Experimental transmission of African horse sickness by means of mosquitoes. *Am. J. Vet. Res.* 1965, 26, 744–748.
- Zientara S., Weyer C.T., Lecollinet S.: African horse sickness. *Rev. sci. techn. Off. Int. Epiz.* 2015, 34, 315–327.
- Hopley R., Toth B.: Focus on: African horse sickness. *Vet. Rec.* 2013, 173, 13–14.
- Manole V., Laurinmaki P., van Vyngaardt W., Potgieter C.A., Venter G.J., van Dijk A.A., Sewell B.T., Butcher S.J.: Structural insight into African horse sickness virus infection. *J. Virol.* 2012, 86, 7858–7866.
- Roy P., Mertens P.P., Casal I.: African horse sickness virus structure. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1994, 17, 243–273.
- Zwart L., Potgieter C.A., Clift S.J., van Staden V.: Characterizing non-structural protein NS4 of African horse sickness virus. *PLoS ONE* 2015, 10, e0124281.
- Arabaid I.E.: PCR detection of African horse sickness virus serogroup based on genome segment three sequence analysis. *J. Virol. Methods.* 2009, 159, 1–5.
- Bachenek-Bañkowska K., Maan S., Castillo-Olivares J., Manning N.M., Maan N.S., Potgieter A.C., Di Nardo A., Sutton G., Batten C., Mertens P.P.: Real-time RT-PCR assays for detection and typing of African horse sickness virus. *PLoS One* 2014, 9 (4), e93758.
- OIE: African horse sickness. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Paris, 2021, 1–16.
- Burrage T.G., Laegreid W.W.: African horse sickness: Pathogenesis and immunity. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1994, 17, 275–285.
- Skowronek A.J., La Franco L., Stone-Marschat M.A., Burrage T.G., Rebar A.H., Laegreid W.W.: Clinical pathology and hemostatic abnormalities in experimental African horse sickness. *Vet. Pathol.* 1955, 32, 112–121.
- Gómez-Villamandoz J.C., Sánchez C., CarraLaviada M.D., Bautista M.J., Martínez-Torrecuadrada J., Sánchez-Vinzaino J.M., Sierra M.A.: Pathogenesis of African horse sickness: Ultrastructural study of the capillaries in experimental infection. *J. Comp. Path.* 1999, 121, 101–116.
- Sittert van S.J., Drew T.M., Kotze J.L., Strydom T., Weyer C.T., Guthrie A.J.: Occurrence of African horse sickness in a domestic dog without apparent ingestion of horse meat. *J. South. Afr. Vet. Assoc.* 2013, 84, <https://journals.jsava.aosis.co.za/index.php/jsava/article/view/948/1232>
- Braverman Y., Chizov-Ginzburg A.: Role of dogs (*Canis domesticus*) as hosts for African horse sickness virus. *Vet. Microbiol.* 1996, 51, 19–25.
- CFSPH: African horse sickness. 2015, 1–6, www.cfsph.iastate.edu

26. Maree S., Paweska J.T.: Preparation of recombinant African horse sickness virus Vp7 antigen via a simple method and validation of a VP7-based indirect ELISA for the detection of group-specific IgG antibodies in horse sera. *J. Virol. Meth.* 2005, **125**, 55–65.
27. Quan M., Lourens C.W., Maclachlan N.J., Gardner I.A., Guthrie A.J.: Development and optimization of a duplex Real-Time Reverse Transcription Quantitative PCR assay targeting the Vp7 and Ns2 genes of African horse sickness virus. *J. Virol. Meth.* 2010, **167**, 45–52.
28. Guthrie A.J., Maclachlan N.J., Joone C., Lourens C.W., Weyer C.T., Quan M., Monyai M.S., Gardner I.A.: Diagnostic accuracy of a duplex Real-Time Reverse Transcription Quantitative PCR assay for detection of African horse sickness *Virus*. *J. Virol. Meth.* 2013, **189**, 30–35.
29. Timony P.: African horse sickness. *AAEP Infect. Dis. Guidelines*. 2020.
30. Teichman von B.F., Smit T.K.: Evaluation of the pathogenicity of African horse sickness (AHS) isolates in vaccinated animals. *Vaccine* 2008, **26**, 5014–5021.
31. Romito M., Du Plessis D.H., Viljoen G.J.: Immune responses in a horse inoculated with the VP2 gene of African horse sickness virus. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 1999, **66**, 139–144.
32. Kanai Y., van Rijn P.A., Maris-Veldhuis M., Kaname Y., Athmaram,, T.N., Roy P.: Immunogenicity of recombinant VP2 proteins of all nine serotypes of African horse sickness virus. *Vaccine* 2014, **32**, 4932–4937.
33. Cottingham M.G., Carroll M.W.: Recombinant MVA vaccines: Dispelling the myths. *Vaccine* 2013, **31**, 4247–4251.
34. Vermaak E., Paterson D.J., Conradie A., Theron J.: Directed genetic modification of African horse sickness virus by reverse genetics. *S. Afr. J. Sci.* 2015, **111**, 1–8.
35. Noad, R., Roy, P.: Virus-like particles as immunogens. *Trends Microbiol.* 2003, **11**, 438–444.
36. Rodriguez M., Joseph S., Pfeffer M., Raghavan R., Wernery U.: Immune response of horses to inactivated African horse sickness vaccines. *BMC Vet Res.* 2020, **16**, 322, <https://doi.org/10.1186>